

文章编号: 1674-7054(2014)01-0084-08

海南高良姜挥发油 GC-MS 指纹图谱分析

王 辉¹, 翟红莉¹, 梅文莉¹, 易 博², 蔡彩虹¹, 曾艳波¹, 董文化¹, 戴好富¹

(1. 中国热带农业科学院 热带生物技术研究所/农业部热带作物生物学与遗传资源利用重点实验室/海南省黎药资源天然产物研究与利用重点实验室, 海南 海口 571101; 2. 中国人民解放军第一八七医院 药剂科, 海南 海口 571159)

摘 要: 建立了海南产高良姜挥发油的 GC-MS 指纹图谱, 对其中 20 个特征化合物进行了精密度、稳定性和重复性分析。结果表明, 高良姜挥发油中检测到了 110 个成分, 其中 20 个特征成分的精密度、稳定性和重复性良好。该方法简单可靠, 可应用于高良姜的品质评价。

关键词: 高良姜; 挥发油; GC-MS 指纹图谱

中图分类号: R 284.1

文献标志码: A

高良姜(*Alpinia officinarum* Hance.) 别名膏凉姜《本草经集注》、良姜《局方》、蛮姜、佛手根《履巉岩本草》、小良姜《中药志》和海良姜《药材学》, 是姜科(Zingiberaceae) 山姜属(*Alpinia* Roxb.) 的多年生草本植物。主产福建、台湾、广东、广西、海南、云南等地, 台湾地区也有少量栽培。高良姜性辛, 温, 入脾、胃经, 具有温胃、祛风、散寒、行气、止痛的功效, 临床用于治疗脾胃中寒、脘腹冷痛、呕吐泄泻、噎膈反胃、食滞、瘴疟、冷癖《本草汇言》。高良姜不仅是一种重要中药, 而且是一种深受人们喜爱的调味品, 被大量用作香料(如盐焗鸡粉等), 其特殊的香味倍受人们喜爱。因此, 高良姜挥发油一直是国内学者研究的重点。热合曼等利用气相色谱-质谱联用仪(GC-MS) 从高良姜挥发油中鉴定出 32 种成分, 确定其主要成分为 1,8-桉油精(65.17%) 和 2,2-二甲基环氧乙烷(21.75%)^[1]; 赵晓颀等建立了同时测定高良姜挥发油中 α -蒎烯、 β -蒎烯、桉油精和 α -松油醇 4 种成分含量的气相色谱方法^[2]; WU 等利用 GC-MS 从海南定安产的自然晾干高良姜的挥发油中鉴定了 32 种成分, 其主要成分 1,8-桉油精的含量达到 72.7%^[3]; 翟红莉等利用 GC-MS 从海南海口产的新鲜高良姜挥发油中共鉴定出 51 种化合物, 主要成分为樟脑萜(12.93%) 和 β -蒎烯(10.09%), 从广东徐闻产的新鲜高良姜挥发油样品中共鉴定出 50 种化合物, 主要成分为氧化石竹烯(11.39%) 和 T-Murolol(8.75%)^[4]。由于方法条件的限制, 许多成分未能鉴定, 造成主要成分含量的误差。同时不同文献报道的高良姜挥发油成分由于其产地和采收季节的差异而大不相同, 从而未能体现其特征性成分, 使得高良姜挥发油的品质评价缺乏科学依据。笔者在前人研究的基础上, 优化高良姜挥发油的 GC-MS 分析条件, 建立其指纹图谱, 并参考前人对高良姜挥发油的分析结果, 确定其特征成分, 旨在为高良姜的品质评价提供科学可靠的方法。

1 材料与方法

1.1 植物材料 实验材料高良姜根茎于 2012-07-05 采自海南省文昌的种植基地, 经中国热带农业科学院热带生物技术研究所代正福副研究员鉴定为姜科山姜属良姜亚属高良姜(*Alpinia officinarum* Hance), 凭证标本(凭证号 AO201207hn) 存放于中国热带农业科学院热带生物技术研究所。

1.2 仪器及分析条件 美国安捷伦公司的 Agilent 6890N-5975B 气质联用仪。色谱柱: HP-5MS (50.0

收稿日期: 2014-03-14

基金项目: 海南省重大科技专项(ZDZX2013008-4); 海南省中药现代化专项资金(2011ZY002; 2012ZY008)

作者简介: 王辉(1981-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 天然产物化学。E-mail: wanghui@itbb.org.cn

通信作者: 戴好富(1974-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 热带药用资源中的活性天然产物。E-mail: daihaofu@itbb.org.cn

m $\times$ 200 μ m $\times$ 0.33 μ m);程序升温:初始温度 50 $^{\circ}$ C 2 $^{\circ}$ C $\cdot$ min $^{-1}$ 程序升温至 150 $^{\circ}$ C 4 $^{\circ}$ C $\cdot$ min $^{-1}$ 程序升温至 270 $^{\circ}$ C,保留 10 min;进样口温度:250 $^{\circ}$ C;载气为氮气(纯度 $\geq$ 99.99%);载气流量:恒定 1.0 mL $\cdot$ min $^{-1}$;分流比:40:1;进样量:0.6 μ L;采用面积归一定量。EI 离子源;离子源温度:230 $^{\circ}$ C;电子能量 70 eV;四极杆温度 150 $^{\circ}$ C;接口温度 280 $^{\circ}$ C;质量扫描范围:33~450 u。

1.3 挥发油的提取 挥发油的提取及出油率的测定参照 2010 年版中国药典一部附录 XD 挥发油测定法,分别称取上述不同产地的新鲜高良姜材料 200 g,置 1 000 mL 圆底烧瓶中,加水 500 mL 及数粒玻璃珠,振摇均匀,连接挥发油测定器与回流冷凝管,自冷凝管上端加水使充满挥发油测定器的刻度部分并溢流入烧瓶为止,置加热套中,设定加热温度为 80~100 $^{\circ}$ C,缓缓加热至微沸 3 h,冷却 1 h,开启挥发油测定器下端活塞,将水缓缓放出,至油层上端到达刻度 0 线上面 5 mm 处为止。所得挥发油用无水硫酸钠除去水分后置 -20 $^{\circ}$ C 冰箱中保存备用。挥发油样品置于 10 mL 容量瓶中,加乙醚定容至刻度,供 GC-MS 分析用。

1.4 分析方法的评价

1.4.1 精密度实验 取样品溶液,按上述分析条件连续进样 5 次,考察各主要色谱峰相对保留时间和相对峰面积的一致性。

1.4.2 稳定性实验 取样品溶液,按上述分析条件在 0,1,2,4,6,8,12,24 h 不同的时间进样分析,考察各主要色谱峰的相对保留时间和相对峰面积的一致性。

1.4.3 重复性实验 取样品溶液,按上述方法平行制备样品供试液 5 份,按上述分析条件进样分析,考察各主要色谱峰的相对保留时间和相对峰面积的一致性。

1.5 数据处理及质谱检索 对总离子流图中的各峰经质谱计算机数据系统检索及核对谱库 LJZ. L, Wiley6.1 和 NIST08. L 质谱数据,再结合相关文献进行人工谱图解析,确定挥发性成分,采用峰面积归一化法测定各化学成分的相对质量分数。

2 结果与分析

2.1 GC-MS 分析结果 高良姜挥发油的总离子流图见图 1。将所得的 GC-MS 总离子流色谱图进行数据剪切,排除头尾溶剂峰的干扰,取 5~80 min 的色谱峰进行分析使用。按峰面积归一化法计算求得高良姜挥发油中各组分的相对百分含量。对得到的挥发油总离子流图的各峰经谱图库 LJZ. L, Wiley6.1 和 NIST08. L 质谱数据检索,确认挥发油中的组分,确定出海南产高良姜挥发油的化学组成,共计 110 个化合物,名称、分子式、保留时间和相对含量见表 1。

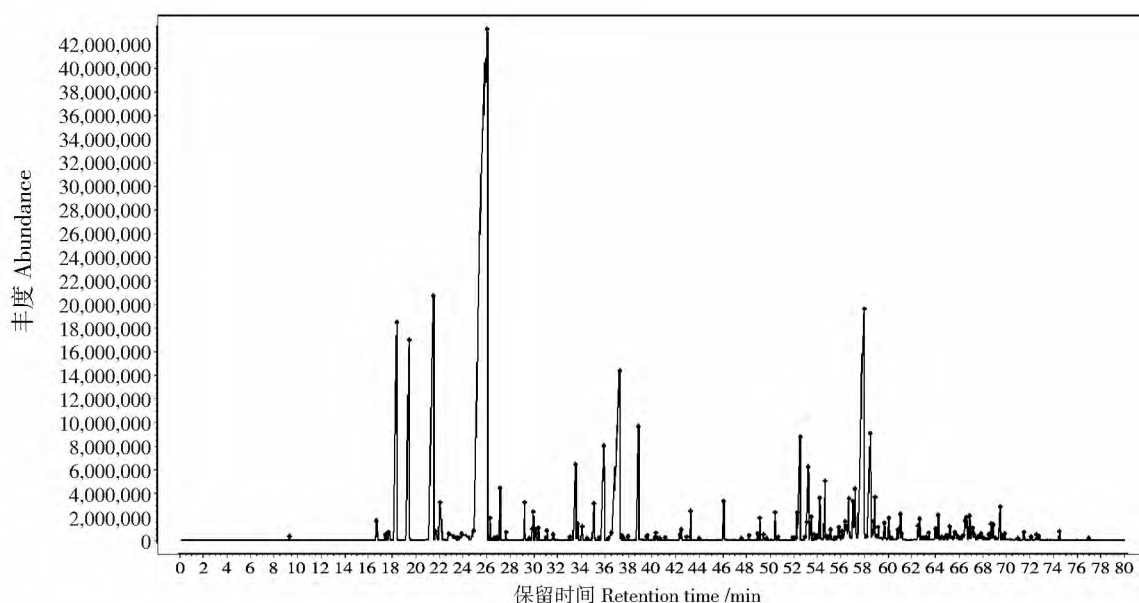


图1 海南产高良姜挥发油总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatogram of the volatile oil of *A. officinarum*

由表 1 可知,高良姜挥发油中 1 β -桉油精的含量最高,达 42.65%,其次为 δ -荜澄茄烯(8.64%), α -松油醇(7.23%) β -蒎烯(6.89%)。热合曼从医院用的高良姜饮片的挥发油中鉴定出 32 种成分,其中主要成分为 1 β -桉油精(65.17%)、2,2-二甲基环氧乙烷(21.75%)、蒎烷(5.05%)、 α -萜品醇(2.71%)^[1]。罗辉等从徐闻产的鲜品和干品高良姜挥发油中分别鉴定出 27 和 23 种成分,其主要成分均为 1 β -桉油精、 β -蒎烯、 α -松油醇和蒎烯,含量则无明显差别^[5]。周璇等比较了 4~6 月份采收的不同产地的高良姜挥发油成分,发现 1 β -桉油精、 γ -杜松烯、反式-石竹烯和 α -香柠檬烯的含量均很高,但其它成分的含量差异很大^[6]。赖展鹏等报道的不同产地的高良姜挥发油中的主要成分为法尼烯、1 β -桉油精、反式-石竹烯和 L- α -松油烯^[7]。笔者所在课题组测得海南定安 10 月份采收的高良姜挥发油中 1 β -桉油精的含量达到 72.7%^[3],海南海口 4 月份采收的高良姜挥发油中主要成分有樟脑萜(12.93%)、 β -蒎烯(10.09%)、 α -松油醇(8.23%)和吉玛烯 D(3.31%)^[4]。不同单位测得的高良姜挥发油的主要成分差异很大。其原因可能是因为挥发油中许多化学成分的分子式相同(如本研究发现有 35 种化合物的分子式为 C₁₅H₂₄)、沸点相似,所以用 GC-MS 很难将这些化合物的峰完全分开,这就造成了在分离度不高的情况下化合物相对含量确定的误差甚至化合物结构鉴定的错误。

荜澄茄烯具有神经保护活性^[8],松油醇具有抗牙周病和龋齿病原菌的作用^[9],并具有显著的抗氧化和体外抗肿瘤活性,可抑制人乳头腺癌细胞核慢性髓细胞样白血病细胞的增殖^[10]。 α -Pinene 蒎烯和 β -Pinene 蒎烯有显著的抗氧化活性^[11]。所以,高良姜挥发油的辛香气味是判断其质量优劣的一个重要指标,且高良姜挥发油具有抗肿瘤^[12]、驱蚊^[13]等作用。因此,鉴定其成分组成对其质量评价和新药开发具有重要作用。以往的研究未能对高良姜挥发油的 GC-MS 分析条件进行优化,仅从中鉴定几十个化合物。本研究首次从中鉴定出 110 种成分,对高良姜挥发油的质量评价和药物开发具有重要意义。

表 1 海南高良姜挥发油的化学成分及含量

Tab. 1 Constituents and contents of volatile oil extracted from *A. officinarum* in Hainan

编号 Code	化合物 Compounds	分子式 Formula	保留时间/min Retention time	相对含量/% Relative content/%
1	异戊酸甲酯 Methyl isovalerate	C ₆ H ₁₂ O ₂	9.316	0.026
2	异丁酸异丁酯 Isobutyl isobutyrate	C ₈ H ₁₆ O ₂	16.716	0.244
3	三环烯 Tricyclene	C ₁₀ H ₁₆	17.436	0.079
4	α -侧柏烯 Alpha-thujene	C ₁₀ H ₁₆	17.707	0.167
5	α -蒎烯 Alpha-pinene	C ₁₀ H ₁₆	18.413	3.973
6	蒎烯 Camphene	C ₁₀ H ₁₆	19.458	3.71
7	β -蒎烯 Beta-pinene	C ₁₀ H ₁₆	21.523	6.892
8	6-甲基-5-庚烯-2-酮 6-methyl-5-hepten-2-one	C ₈ H ₁₄ O	21.693	0.176
9	β -月桂烯 Beta-myrcene	C ₁₀ H ₁₆	22.065	0.886
10	2-甲基丁酸-2-二甲基丙酯 Isobutyl 2-methylbutyrate	C ₉ H ₁₈ O ₂	22.81	0.255
11	1-水芹烯 1-phellandrene	C ₁₀ H ₁₆	23.231	0.039
12	异丁酸异戊酯 Isopentyl isobutanoate	C ₉ H ₁₈ O ₂	23.487	0.03
13	2-甲基丁基异丁酸酯 2-methylbutyl isobutyrate	C ₉ H ₁₈ O ₂	23.709	0.049
14	α -萜品烯 Alpha-terpinene	C ₁₀ H ₁₆	23.937	0.361
15	双戊烯 Di-limonene	C ₁₀ H ₁₆	24.919	0.145
16	1 β -桉油精 1 β -cineole	C ₁₀ H ₁₈ O	26.084	42.653
17	反式- β -罗勒烯 Trans-beta-ocimene	C ₁₀ H ₁₆	26.331	0.164

续表 1 Continuing table 1

编号 Code	化合物 Compounds	分子式 Formula	保留时间/min Retention time	相对含量/% Relative content/%
18	甜瓜醛 2,6-dimethyl hept-5-en-1-al	C ₉ H ₁₆ O	26.67	0.011
19	丁酸异戊酯 Isoamyl butyrate	C ₉ H ₁₈ O ₂	26.732	0.014
20	2-甲基丁酯 2-methyl-butyl butyrate	C ₉ H ₁₈ O ₂	26.921	0.024
21	γ-萜品烯 Gamma-terpinene	C ₁₀ H ₁₆	27.192	0.491
22	α-萜品油烯 Alpha-terpinolene	C ₁₀ H ₁₆	29.238	0.301
23	苯甲酸甲酯 Methyl benzoate	C ₈ H ₈ O ₂	29.654	0.013
24	2-甲基丁酸-3-甲基丁酯 Isopentyl 2-methylbutanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	29.886	0.067
25	芳樟醇 Linalool	C ₁₀ H ₁₈ O	29.963	0.291
26	2-甲基丁酸-2-甲基丁酯 2-methylbutyl 2-methylbutyrate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	30.166	0.083
27	异戊酸异戊酯 Isoamyl isovalerate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	30.22	0.038
28	异戊酸异戊酯 2-methylbutyl Isovalerate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	30.432	0.094
29	(E)-4,8-dimethyl-4,3,7-nonatriene	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	31.071	0.005
30	小茴香醇 D-fenchyl alcohol	C ₁₀ H ₁₈ O	31.143	0.081
31	樟脑 Camphor	C ₁₀ H ₁₆ O	33.567	1.274
32	E-甲基-苄基醇 exo-methyl-camphenilol	C ₁₀ H ₁₆ O	33.765	0.124
33	苯丙醛 Benzenepropanal	C ₉ H ₁₀ O	34.519	0.014
34	苄醇 Borneol	C ₁₀ H ₁₈ O	35.081	0.3
35	δ-松油醇 Delta-terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	35.119	0.266
36	异蒎苄酮 Isopinocampheol	C ₁₀ H ₁₆ O	35.554	0.024
37	4-松油醇 4-terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	35.961	1.761
38	茴香醚 Dill ether	C ₇ H ₈ O	36.333	0.01
39	α-松油醇 Alpha-terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	37.291	7.23
40	桃金娘烯醇 Myrtenol	C ₁₀ H ₁₆ O	37.436	0.04
41	6,6-二甲基-二环[3.1.1]庚-2-烯-2-乙醇 Homomyrtenol	C ₁₁ H ₁₈ O	37.634	0.017
42	顺式-薄荷醇 cis-piperitol	C ₁₀ H ₁₈ O	38.011	0.034
43	α-乙酸小茴香酯 Alpha-fenchyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	38.901	1.819
44	麝香草酚甲醚 Thymol methyl ether	C ₁₁ H ₁₆ O	39.603	0.017
45	4-苯基-2-丁酮 2-Butanone, 4-phenyl-	C ₁₀ H ₁₂ O	40.352	0.064
46	香芹酮 Carvone	C ₁₀ H ₁₄ O	40.41	0.021
47	己酸异戊酯 3-methylbutyl hexanoate	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	40.691	0.017
48	B-乙酸苯乙酯 B-phenylethyl acetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	41.141	0.014
49	左旋乙酸冰片酯 L-bornyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	43.322	0.279
50	苯甲酸异丁酯 Isobutyl benzoate	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	46.127	0.39
51	α-毕澄茄烯 Alpha-cubebene	C ₁₅ H ₂₄	47.602	0.018
52	环蒜头烯 Cyclosativene	C ₁₅ H ₂₄	48.976	0.057
53	α-衣兰烯 Alpha-ylangene	C ₁₅ H ₂₄	49.179	0.184

续表 1 Continuing table 1

编号 Code	化合物 Compounds	分子式 Formula	保留时间/min Retention time	相对含量/% Relative content/%
54	α -古巴烯 Alpha-copaene	C ₁₅ H ₂₄	49.455	0.058
55	肉桂酸甲酯 Methyl cinnamate	C ₁₀ H ₁₀ O ₂	49.731	0.019
56	(-)- β -榄香烯(-)-Beta-elemene	C ₁₅ H ₂₄	50.456	0.324
57	α -古芸烯 Alpha-gurjunene	C ₁₅ H ₂₄	50.688	0.028
58	α -香柠檬烯 Alpha-bergamotene	C ₁₅ H ₂₄	51.926	0.025
59	α -檀香烯 Alpha-santalene	C ₁₅ H ₂₄	52.313	0.235
60	反式石竹烯 Trans-caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	52.57	1.768
61	β -毕澄茄烯 Beta-Cubebene	C ₁₅ H ₂₄	52.986	0.027
62	γ -榄香烯 Gamma-elemene	C ₁₅ H ₂₄	53.116	0.149
63	α -香柑油烯 Alpha-bergamotene	C ₁₅ H ₂₄	53.266	0.997
64	α -愈创木烯 Alpha-guaiene	C ₁₅ H ₂₄	53.503	0.261
65	3,7-愈创木二烯 3,7-guaiadiene	C ₁₅ H ₂₄	53.789	0.063
66	γ -衣兰油烯 Gamma-murolene	C ₁₅ H ₂₄	54.04	0.055
67	白菖油萜 Calarene	C ₁₅ H ₂₄	54.243	0.443
68	α -蛇麻烯 Alpha-humulene	C ₁₅ H ₂₄	54.674	0.634
69	β -檀香萜 Beta-Santalene	C ₁₅ H ₂₄	54.761	0.023
70	表双环倍半水芹烯 Epi-bicyclosesquiphellandrene	C ₁₅ H ₂₄	55.128	0.102
71	α -衣兰油烯 Alpha-murolene	C ₁₅ H ₂₄	55.506	0.110
72	γ -蛇床烯 Gamma-Selinene	C ₁₅ H ₂₄	55.685	0.02
73	α -榄香烯 Alpha-elemene	C ₁₅ H ₂₄	55.863	0.33
74	右旋大根香叶烯 Germacrene-D	C ₁₅ H ₂₄	56.366	0.287
75	β -花柏烯(+)-Beta-chamigrene	C ₁₅ H ₂₄	56.497	0.157
76	β -蛇床烯 Beta-selinene	C ₁₅ H ₂₄	56.691	0.502
77	瓦伦烯 Valencene	C ₁₅ H ₂₄	57.058	0.485
78	α -蛇床烯 Alpha-selinene	C ₁₅ H ₂₄	57.223	0.649
79	δ -葑澄茄烯 Delta-cadinene	C ₁₅ H ₂₄	57.972	8.641
80	α -金合欢烯 E- α -farnesene	C ₁₅ H ₂₄	58.166	0.029
81	γ -葑澄茄烯 Gamma-cadinene	C ₁₅ H ₂₄	58.528	2.386
82	Selina-3,7(11)-diene	C ₁₅ H ₂₄	58.712	0.066
83	β -葑澄茄烯 Beta-cadinene	C ₁₅ H ₂₄	58.794	0.119
84	α -古芸烯 Alpha-gurjunene	C ₁₅ H ₂₄	59.709	0.187
85	α -白菖考烯 Alpha-calacorene	C ₁₅ H ₂₀	60.081	0.206
86	旱麦草烯 Eremophilene	C ₁₅ H ₂₄	60.308	0.039
87	橙花叔醇 Nerolidol	C ₁₅ H ₂₆ O	60.836	0.096
88	大根香叶烯 B Germacrene B	C ₁₅ H ₂₄	61.087	0.346
89	石竹烯氧化物(-)-Caryophyllene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	62.543	0.138

续表 1 Continuing table 1				
编号 Code	化合物 Compounds	分子式 Formula	保留时间/min Retention time	相对含量/% Relative content/%
90	α -杜松醇 Alpha-cadinol	C ₁₅ H ₂₆ O	62.693	0.286
91	3-苯基丙酸-3-甲基丁酯 3-phenylpropionic acid, 3-methylbutyl ester	C ₁₅ H ₂₄ O	63.268	0.025
92	3-苯基丙酸-2-甲基丁酯 3-phenylpropionic acid, 2-methylbutyl ester	C ₁₅ H ₂₄ O	63.486	0.068
93	蛇麻烯氧化物 Humulene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	64.042	0.135
94	香榧醇 Torreyol	C ₁₅ H ₂₆ O	64.279	0.302
95	T-杜松醇 T-Cadinol	C ₁₅ H ₂₆ O	65.74	0.07
96	T-依兰油醇 T-muurolol	C ₁₅ H ₂₆ O	66.364	0.064
97	α -毕橙茄醇 Alpha-cadinol	C ₁₅ H ₂₆ O	66.543	0.225
98	新臭根子草醇(+-)-5-epi-neointermedeol	C ₁₅ H ₂₆ O	66.673	0.246
99	(-)-Allokhusiol	C ₁₅ H ₂₆ O	67.201	0.121
100	左旋环烯庚烯醇 Levomenol	C ₁₅ H ₂₆ O	67.873	0.068
101	苦槛蓝醇(-)-Anymol	C ₁₅ H ₂₆ O	67.984	0.025
102	α -白檀油烯醇 Alpha-santalol	C ₁₅ H ₂₄ O	68.743	0.16
103	刺柏脑 Juniper camphor	C ₁₅ H ₂₆ O	68.918	0.155
104	z- α -反式-波罗门檀香 Bergamotol, z-alpha-trans-	C ₁₅ H ₂₄ O	69.512	0.423
105	顺式金合欢醇 cis-farnesol	C ₁₅ H ₂₆ O	69.711	0.043
106	异匙叶桉油烯醇 Isospathulenol	C ₁₅ H ₂₄ O	69.899	0.06
107	顺式- β -白檀油烯醇 cis-beta-santalol	C ₁₅ H ₂₄ O	70.997	0.008
108	α -甜橙醛 Alpha-sinensal	C ₁₅ H ₂₂ O	71.524	0.111
109	龙涎酮 Ambrial	C ₁₆ H ₂₆ O	74.543	0.087
110	苯甲酸苯乙酯 Phenylethyl benzoate	C ₁₅ H ₁₄ O ₂	76.995	0.015

参照文献及本样品的 GC-MS 色谱图分析结果,从中选定 20 个常见成分构成海南高良姜指纹图谱的稳定特征峰,经计算特征峰占总峰面积的 80% 以上。对其进行精密度、稳定性和重复性实验,结果见表 2。从表 2 可见,各主要色谱峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值均小于 3%,表明仪器精密度、稳定性和重复性良好,可满足不同产地、不同种源的高良姜挥发油化学成分分析要求。

表 2 精密度、稳定性和重复性实验结果($n=5$)
Tab. 2 Results of accuracy, stability and repeatability tests ($n=5$)

峰号 Peak No.	名称 Name	相对保留时间 RSD/% Relative retention time RSD/%			相对峰面积值 RSD/% Relative peak area values RSD/%		
		精密度 Accuracy	稳定性 Stability	重复性 Repeatability	精密度 Accuracy	稳定性 Stability	重复性 Repeatability
1	1- β -桉油精 1- β -cineole	1.75	1.83	1.92	0.94	1.07	1.69
2	α -松油醇 α -terpineol	1.45	0.42	2.60	1.47	0.93	0.77
3	β -蒎烯 Beta-pinene	0.00	0	0.00	0	0	0
4	莰烯 Camphene	2.00	0.83	1.27	1.48	2.16	1.83
5	α -蒎烯 α -pinene	2.17	1.05	1.30	0.86	2.21	2.12

续表 2 Continuing table 2

峰号 Peak No.	名称 Name	相对保留时间 <i>RSD</i> /%			相对峰面积值 <i>RSD</i> /%		
		Relative retention time <i>RSD</i> /%			Relative peak area values <i>RSD</i> /%		
		精密度 Accuracy	稳定性 Stability	重复性 Repeatability	精密度 Accuracy	稳定性 Stability	重复性 Repeatability
6	反式石竹烯 trans-caryophyllene	1.34	1.41	1.90	1.25	1.80	2.38
7	δ -荜澄茄烯 δ -cadinene	1.60	0.92	0.67	1.55	2.15	142
8	α -香柠檬烯 α -bergamotene	1.43	1.26	1.30	1.34	1.92	1.16
9	樟脑 Camphor	2.07	1.86	1.07	0.93	2.60	2.03
10	4-松油醇 4-terpineol	1.68	1.90	2.16	1.04	1.98	2.08
11	α -蛇麻烯 α -humulene	1.45	1.37	1.67	1.14	2.43	1.70
12	β -月桂烯 β -myrcene	2.00	2.25	1.57	2.07	2.44	2.19
13	(-)- β -榄香烯(-)- β -elemene	1.07	2.07	1.90	1.62	2.33	1.96
14	α -檀香烯 α -santalene	1.42	1.67	0.91	2.21	2.81	2.21
15	大根香叶烯 B Germacrene B	2.53	1.35	2.30	1.69	2.63	2.55
16	瓦伦烯 Valencene	1.27	1.57	1.46	1.30	2.40	2.35
17	白菖油萜 Calarene	1.66	0.58	0.81	2.02	2.07	1.99
18	γ -萜品烯 γ -terpinene	1.62	1.41	0.86	2.50	2.29	2.02
19	左旋乙酸冰片酯 L-bornyl acetate	2.40	2.25	1.19	2.47	2.12	1.80
20	芳樟醇 Linalool	1.55	1.53	1.02	1.01	1.24	1.86HJ

3 小 结

本研究建立了高良姜挥发油的 GC-MS 指纹图谱,首次从高良姜挥发油中检测到了 110 个成分,发现其中 20 个特征峰的精密度、稳定性和重复性良好。该方法简单可靠,不仅为高良姜的品质评价提供了依据,而且为高良姜挥发油的药物开发提供了参考。

参考文献:

- [1] 努尔阿尼也·热合曼,热娜·卡斯木,早然木·尼亚孜. 高良姜挥发油成分气相色谱-质谱分析[J]. 新疆医科大学学报,2008,31(4): 441-442.
- [2] 赵晓颀,陈晓辉,谭晓婧,等. GC 同时测定高良姜挥发油中 α -蒎烯、 β -蒎烯、桉油精和 α -松油醇的含量[J]. 中国中药杂志,2009,34(21): 2751-2753.
- [3] WU J, LEI L W, MEI W L, et al. High-level 1 β -cineole in the *Alpinia officinarum* essential oil from Hainan island of China [J]. Chemistry of Natural Compounds, 2012, 48(2): 325-326.
- [4] 翟红莉,王辉,曾艳波,等. 两种不同产地高良姜挥发油成分的 GC-MS 分析[J]. 热带作物学报,2013,34(12): 1-7.
- [5] 罗辉,蔡春,刘江琴,等. 高良姜鲜品和干品挥发油化学成分的比较[J]. 中国现代应用药学,1998,15(1): 16-18.
- [6] 周璇,郭晓玲,冯毅凡. 不同产地高良姜挥发油化学成分的研究[J]. 中草药,2006,37(1): 33-34.
- [7] 赖展鹏,程轩轩,杨全,等. 不同种源高良姜 1 β -桉油精含量及挥发油成分分析[J]. 亚太传统医药,2010,6(9): 6-8.
- [8] SUN Y P, SE J P, NAN J P, et al. α -Iso-cubebene exerts neuroprotective effects in amyloid beta stimulated microglia activation [J]. Neuroscience Letters, 2013, 555: 143-148.
- [9] PARK S N, LIM Y K, FREIRE M O, et al. Antimicrobial effect of linalool and α -terpineol against periodontopathic and cariogenic bacteria [J]. Anaerobe, 2012, 18: 369-372.
- [10] BICAS J L, NERI-NUMA I A, RUIZ A L T G. Evaluation of the antioxidant and antiproliferative potential of bioflavors [J]. Food and Chemical Toxicology, 2011, 49: 1610-1615.

- [11] WANG W, WU N, ZU Y G. Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components [J]. Food Chemistry, 2008, 108(3): 1019–1022.
- [12] 李宁, 熊勇, 张海涛, 等. 高良姜挥发油对不同肿瘤细胞株增殖的影响 [J]. 山东医药, 2012, 52(11): 19–21.
- [13] 张书锋, 郝勇, 胡聪, 等. 白豆蔻、望春花和高良姜挥发油驱蚊活性的评价 [J]. 白求恩医学院学报, 2011, 9(1): 8–9.

GC-MS Fingerprinting Analysis of Volatile Oil from Rhizome of *Alpinia Officinarum* in Hainan

WANG Hui¹, ZHAI Hongli¹, MEI Wenli¹, YI Bo², CAI Caihong¹, ZENG Yanbo¹,
DONG Wenhua¹, DAI Haofu¹

(1. Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology/Ministry of Agriculture Key Laboratory of Biology and Genetic Resources of Tropical Crops/Hainan Key Laboratory for Research and Development of Natural Products from Li Folk Medicine, CA-TAS, Haikou 571101, China; 2. Department of Pharmacy, the 187th Hospital of PLA, Haikou 571159, China)

Abstract: Volatile oil extracted from rhizome of *Alpinia officinarum* in Hainan was analyzed by using GC-MS fingerprinting, and 110 constituents from the volatile oil was determined, of which 20 constituents were detected accurate and stable with good repeatability. This fingerprinting method can be applied in the evaluation of *A. officinarum* as it is simple and reliable.

Key words: *Alpinia officinarum*; volatile oil; GC-MS fingerprinting

(上接第 77 页)

Two-dimensional Polyacrylamide Gel Electrophoresis Techniques for Proteomic Research of *Gluconacetobacter*

YANG Xuan¹, LI Jun¹, LI Congfa¹, HAO Junran², XU Wentao², LIU Sixin¹

(1. College of Food Sciences, Hainan University, Haikou 570228, China;
2. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: The protein extraction, isoelectric point of distribution and protein purification of the proteins of *Gluconacetobacter*, a stain produced bacterial cellulose, were tried and optimized to establish a set of two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis (2DE) techniques for proteomic analysis of *Gluconacetobacter*. The results showed that *Gluconacetobacter* proteins were mainly distributed in the range of pI 4–7. The 2D Clean-up kit purification after ultrafiltration concentration gave better protein separation effect. Under Coomassie brilliant blue G250 condition, (1037 ± 65) protein points were isolated.

Key words: *Gluconacetobacter*; two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis; proteomics